

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-342247

(P2000-342247A)

(43) 公開日 平成12年12月12日 (2000. 12. 12)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
C 1 2 N	1/16	C 1 2 N	D 4 B 0 6 5
	1/00		H
	1/20		A

審査請求 有 請求項の数 5 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願平11-157326

(22) 出願日 平成11年6月4日 (1999. 6. 4)

特許法第30条第1項適用申請有り 平成10年12月5日  
社団法人日本生物工学会開催の「平成10年度日本生物工  
学会九州支部大会」において文書をもって発表

(71) 出願人 000177508

三和酒類株式会社

大分県宇佐市大字山本2231-1

(72) 発明者 大森 俊郎

大分県宇佐市大字山本2231-1 三和酒類  
株式会社内

(72) 発明者 古田 吉史

大分県宇佐市大字山本2231-1 三和酒類  
株式会社内

(74) 代理人 100091144

弁理士 荻上 豊規

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地およびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】 焼酎蒸留残液を原料とした、水不溶性成分お  
よび着色成分が極めて少なく微生物の増殖促進効果に優  
れた、微生物用培地およびその製造方法を提供する。

【解決手段】 大麦を原料とする焼酎製造において副成す  
る焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得、該液体分を  
ろ過して清澄液を得、該清澄液を濃縮して濃縮液を得、  
該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着  
性画分を得、該非吸着性画分を乾燥することにより得ら  
れる乾燥物を有効成分として含有することを特徴とする  
微生物用培地およびその製造方法。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 大麦を原料とする焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得、該液体分をろ過して清澄液を得、該清澄液を濃縮して濃縮液を得、該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得、該非吸着性画分を乾燥することにより得られる乾燥物を有効成分として含有することを特徴とする微生物用培地。

【請求項2】 前記微生物が、酵母、乳酸菌、及びビフィズス菌である請求項1に記載の微生物用培地。

【請求項3】 大麦を原料とする焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得る第1の工程、該液体分をろ過して清澄液を得る第2の工程、該清澄液を濃縮して濃縮液を得る第3の工程、該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得る第4の工程、該非吸着性画分を乾燥する第5の工程を含むことを特徴とする微生物用培地の製造方法。

【請求項4】 前記第2の工程で得られた清澄液、あるいは前記第3の工程で得られた濃縮液を中和する工程をさらに有する請求項3に記載の微生物用培地の製造方法。

【請求項5】 前記合成吸着剤が、芳香族系合成吸着剤、芳香族系修飾型合成吸着剤、およびメタクリル系合成吸着剤のうちから選ばれるものである請求項3または4に記載の微生物用培地の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は焼酎製造で副成する焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地、およびその製造方法に関する。より詳しくは本発明は、大麦を原料とする焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得、該液体分をろ過して清澄液を得、該清澄液を濃縮して濃縮液を得、該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得、該非吸着性画分を乾燥することにより得られる乾燥物を有効成分として含有することを特徴とする微生物用培地およびその製造方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液は、家畜用飼料あるいは肥料として一部で利用される場合があるが、大部分は海洋投棄、大地還元、焼却処分などにより廃棄処分されるのが一般的である。海洋投棄は焼酎蒸留残液の安価な処分方法であるが、世界的な環境問題の高まりにより、法的に規制され全面禁止されることになっている。また、大地還元も地下水や河川を汚染する問題があり、焼却処理はコストおよびダイオキシン発生等の問題がある。このようなことから、現在、多方面において焼酎蒸留残液の有効利用が検討されている。これまでに、上述したように焼酎蒸留残液を飼料あるいは肥料として利用する方法等が提案されている。

【0003】また、上述の提案の他に、焼酎蒸留残液の微生物用培地への利用が提案されている。例えば、特開平8-308590号公報（以下、文献1と言う。）には、ポリ- $\gamma$ -グルタミン酸を製造する際に、ポリ- $\gamma$ -グルタミン酸産生土壌細菌の培地として焼酎蒸留残液を用いることが記載されている。一般に、焼酎蒸留残液は0.1～2g/Lのグルタミン酸を含むことに鑑みて、文献1においては、ポリ- $\gamma$ -グルタミン酸生産のためのグルタミン酸供給源として焼酎蒸留残液を利用している。具体的には、固液分離を行って得られた焼酎蒸留残液を固液分離に付して得られた上清（pH3.8）を、水酸化ナトリウム水溶液でpH6.5に調整し、これをそのまま培地として使用している。しかしながら、焼酎蒸留残液は、水分を90%近く含み、しかもそのBODが70000～100000mg/Lと極めて高いため腐敗の進行が早く、文献1に記されているように、焼酎蒸留残液の上清を中和後そのまま培地として用いた場合には保存性が極めて悪い。また当該焼酎蒸留残液の上清は水不溶性成分を多く含み、さらにSS（懸濁物質：水中に分散している固形粒子分のなかで、2mm以下の径でろ紙の目にとどまるもの）を含有するため、これを微生物用培地として用いた場合には、培養中の菌体濃度の測定や培養終了後の菌体の回収が困難である。そのため培地としての価値を著しく低める原因となってしまうことから好ましくない。この他に当該焼酎蒸留残液の上清は、培地成分としては望ましくない着色成分も多く含んでいるため、着色成分を含んだ微生物用培地をそのまま用いる場合には、培養中の菌体濃度の測定が困難になるだけでなく、培養終了後に得られる菌体が着色されてしまう。このことは、培地としての価値を著しく低めてしまう。

【0004】ところで、本発明者らの一人は、焼酎蒸留残液を有効利用する観点から、特開平8-56584号公報（以下、文献2と言う。）において、焼酎蒸留残液から飼料を製造する方法を提案している。文献2では、焼酎蒸留残液を固液分離して液体分と固体分に分け、該液体分のSS（懸濁物質：水中に分散している固形粒子分のなかで、2mm以下の径でろ紙の目にとどまるもの）の量を100g/L以下に調整後に所定の水分まで乾燥させた前記液体分の乾燥物と、別の方法で乾燥させた前記固体分の乾燥物を混合することにより飼料を製造する方法が記載されている。

【0005】本発明者らは、文献2において得られる飼料を、そのまま酵母等の微生物用培地として用いたところ、以下のような問題があることが判明した。すなわち、当該飼料は固体分乾燥物を混合しているために水不溶性成分が多く、さらに着色成分も多いため、そのままでは微生物用培地として使用に適していないことが判った。また、前記液体分の乾燥物をそのまま酵母等の微生物用培地として用いたところ、同じく水不溶性成分と着

色成分が多く、そのままでは微生物用培地として使用に適していないことが判った。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】以上述べたように、文献1においては、固液分離を行った焼酎蒸留残液の上清を水酸化ナトリウム水溶液でpH6.5に調整して培地として用いるが、この場合、当該培地は液体であるために保存性が悪く、さらに水不溶性成分およびSS、さらに培地成分としては望ましくない着色成分を含有し、これらは培地としての価値を著しく低めてしまうという問題がある。また、文献2に記載された飼料、あるいは液体分の乾燥物をそのまま微生物用培地として用いた場合には、上述したように水不溶性成分およびSS、さらに培地成分としては望ましくない着色成分を含有するために、そのままでは微生物用培地として使用に適していない。これらの問題は焼酎蒸留残液の微生物用培地への有効利用を進める上で早急に解決を要する問題である。

【0007】本発明は、上述した従来技術における問題点を鑑みて、さらなる研究の結果完成に至ったものである。本発明の主たる目的は、焼酎蒸留残液からの微生物用培地製造に係る従来技術における上記問題点を解決し、焼酎蒸留残液から、水不溶性成分および着色成分が極めて少なく、これを微生物用培地として用いた場合に、得られる培養菌体の量が著しく増加する微生物用培地およびその製造方法を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、焼酎蒸留残液からの微生物用培地製造における上述した問題を解決し、焼酎蒸留残液をより有効に利用する観点から、水不溶性成分および着色成分が極めて少なく、微生物用培地として用いた場合に、得られる培養菌体の量が著しく増加する微生物用培地を得ることを目的として、実験を介して鋭意研究を重ねた。その結果、大麦を原料とする焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得、該液体分をろ過して清澄液を得、該清澄液を濃縮して濃縮液を得、該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得、該非吸着性画分を乾燥することにより、水不溶性成分および着色成分が極めて少なく、これを微生物用培地として用いた場合、得られる培養菌体の量が著しく増加する微生物用培地が得られ、上記課題が解決されることが判明した。本発明はこの判明した事実に基づくものである。

【0009】以下本発明の好ましい態様について述べるが、これらによって何ら本発明が制限されるものではない。本発明の微生物用培地は、図1に示すように、大麦を原料とする焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得る第1の工程、該液体分をろ過して清澄液を得る第2の工程、該清澄液を濃縮して濃縮液を得る第3の工程、該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得る第4の工程、得られ

た該非吸着性画分を乾燥する第5の工程により得られるものである。以下に本発明の微生物用培地を製造する際に原料として用いる焼酎蒸留残液、および各工程について詳述する。

【0010】本発明において言う焼酎蒸留残液は、大麦又は精白大麦を原料として大麦麹および蒸麦を製造し、得られた大麦麹および蒸麦中に含まれるでんぷんを麹および／又は酵素剤を使用して糖化し、さらに酵母によるアルコール発酵を行い焼酎熟成もろみを得、得られた焼酎熟成もろみを減圧蒸留または常圧蒸留等の単式蒸留装置を用いて蒸留する際に蒸留残さとして副成するものを意味し、代表的には例えば大麦焼酎の蒸留残液が挙げられる。さらに米焼酎、甘藷焼酎、そば焼酎の製造においても、これらの焼酎製造において原料の一部として大麦を使用する場合に副成する焼酎蒸留残液も本発明において言う焼酎蒸留残液に包含される。

【0011】本発明において、焼酎製造の蒸留工程で得られた焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得る第1の工程は、焼酎蒸留残液から原料大麦あるいは麹由来の水不溶性の発酵残渣や酵母菌体を除去し、液体分を得ることを目的として行うものである。この第1の工程においては、一般的にスクリュースプレス方式やローラープレス方式、あるいはろ過圧搾式の固液分離機を用いて行うことができる。こうして、第1の工程で得られる該液体分をろ過して清澄液を得る第2の工程は、該液体分に依然として多く含まれているSSを除去して清澄液を得ることを目的として行うものである。第2の工程のろ過処理においては、各種の遠心分離機、ケイソウ土ろ過装置、セラミックろ過装置、あるいはろ過圧搾機等を用いて行うことができる。

【0012】また、本発明において、第2の工程で得られる清澄液を濃縮して濃縮液を得る第3の工程は、次の第4の工程において吸着処理に付す清澄液の濃度を高める目的のために実施するものである。この第3の工程の清澄液の濃縮方法には公知の方法を用いることができ、具体的には、減圧濃縮装置、真空蒸発装置等を用いて行うことができる。

【0013】第3の工程で得られる該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得る第4の工程は、該濃縮液に含まれる培地成分としては望ましくない着色成分を取り除くことを目的として行うものである。なお、着色成分が培養液中に多量に存在すると、培養中の菌体濃度の測定が困難になるだけでなく、培養終了後に得られる菌体が着色されてしまうことから、培地としての価値を著しく低めてしまう。第4の工程で使用する合成吸着剤としては、芳香族系、芳香族系修飾型、メタクリル系の合成吸着剤を用いることができる。例えば、合成吸着剤として好適なものとしては、三菱化学社製のセパビーズSP850およびダイイオンHP20、さらにオルガノ社製のアンバーライトXAD16等

を使用することができる。

【0014】また第4の工程で得られる非吸着性画分を乾燥する第5の工程は、該非吸着性画分を乾燥する方法として、ディスク型ドライヤー、ドラム型ドライヤー、スプレー型ドライヤー等の乾燥装置、あるいは凍結乾燥機を用いて行うことができる。

【0015】ところで、微生物の生育用培地については、それぞれの微生物に最適のpHがあり、細菌用の培地はpH6.8～7.2、カビ・酵母用の培地はpH5.0～6.0に調整するのが一般的である。焼酎蒸留残液は麹菌由来のクエン酸を含むため、そのpHは3～4と低く、これをそのまま培地原料として用いた場合には、得られた培地のpH値が一般的に微生物の培養に最適とされるpH値よりもかなり低くなり好ましくない。従って、本発明においても、第2の工程で得られた清澄液、あるいは第3の工程で得られた濃縮液を適当な中和剤を用いて中和処理することが望ましい。こうした中和剤としては、水酸化ナトリウム／水酸化カリウム等を使用することができる。

【0016】さらに、第4の工程で得られる該非吸着性画分を乾燥する第5の工程においては、微生物用培地乾燥物の粒子の均一化を図るために、乾燥前の該非吸着性画分に賦形剤を添加することもでき、そうした賦形剤としては、噴霧乾燥により粉末製品を得る際に一般的に用いられる賦形剤を使用することができる。好ましい具体例としては、ばい焼デキストリンや酵素変性デキストリン等のデキストリン類、あるいはエーテル化デンプンや酸処理デンプン等のデンプン類を挙げることができる。

【0017】なお、本発明の微生物用培地は、特に、酵母、乳酸菌、及びビフィズス菌の菌体を培養する際に、酵母エキス、カゼインペプトン、肉エキス等の窒素源の代替として使用することができる。この場合、本発明の微生物用培地が窒素源として利用されるだけでなく、培養菌体の増殖速度を高め、その結果、得られる培養菌体の量が著しく増大する。この他、本発明の微生物用培地は、特に、酵母、乳酸菌、及びビフィズス菌の菌体を培養する際に、窒素源を十分に含有する培地に増殖促進因子として添加することができる。この場合、本発明の微生物用培地により菌体の増殖が一層促進されると共に、菌体の増殖速度が一層高められ、そしてまた、前記の場合と同様に、得られる培養菌体の量が著しく増大する。前記酵母としてはSaccharomyces属の酵母を挙げることができ、前記乳酸菌としてはLactobacillus属のLactobacillus acidophilus、Lactobacillus plantarum、Lactobacillus fermentum等を挙げることができ、さらに前記ビフィズス菌としてはBifidobacterium属のBifidobacterium bifidum、Bifidobacterium longum等を挙げることができる。

【0018】

【発明の実施の形態】

10

20

30

40

50

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によって何ら限定されるものではない。

【0019】

【大麦製焼酎蒸留残液の取得】以下の実施例に供する目的で大麦製焼酎の製造を行った。仕込みの割合は表1に示す通りとした。原料としては、大麦(70%精白)を用いた。麴の製造は大麦を40%(W/W)吸水させ、40分間蒸した後、40℃まで放冷し、大麦トンあたり1kgの種麴(白麴菌)を接種し、38℃、RH95%で24時間、32℃、RH92%で20時間で行った。蒸麦は大麦を40%(W/W)吸水させ40分間蒸した後、40℃まで放冷後、1次仕込みに加えた。1次仕込みでは前述の方法で製造した大麦麴(大麦として3トン)に、水3.6キロリットル及び酵母として焼酎酵母の培養菌体1kg(湿重量)を加えて1次もろみを得、得られた1次もろみを5日間の発酵(1段目の発酵)に付した。次いで、2次仕込みでは、上記1段目の発酵を終えた1次もろみに、水11.4キロリットル、前述の方法で製造した蒸麦(大麦として7トン)を加えて11日間の発酵(2段目の発酵)に付した。発酵温度は1次仕込み、2次仕込みとも25℃とした。上記2段目の発酵を終えた2次もろみを常法により単式蒸留に付し、大麦製焼酎10キロリットルと大麦製焼酎蒸留残液15キロリットルを得た。得られた大麦製焼酎蒸留残液を以下の実施例に用いた。

【0020】

【実施例1】大麦製焼酎製造の蒸留工程で得られた前記大麦製焼酎蒸留残液1キロリットルを信和エンジニアリング(株)製のスクリーブレス方式の固液分離機で固液分離し、得られた液体分をさらに藪田産業(株)社製のろ過圧搾機を用いてさらにSS分を分離し、約0.85キロリットルの清澄液を得た。次に、該清澄液を(株)大河原製作所製の真空蒸発装置を用いて約1/3に濃縮して濃縮液を得た。得られた該濃縮液を三菱化学社製の合成吸着剤セパビーズSP850を充填したカラムに接触させ、当該カラムから溶出してきた当該合成吸着剤に対して非吸着性を示す非吸着性画分を得た。得られた非吸着性画分を(株)大河原化工機製スプレー型乾燥機を用いて、入口温度150℃、出口温度80℃、熱風量0.45m<sup>3</sup>/min、および噴霧空気量1.0kgf/cm<sup>2</sup>の条件で噴霧乾燥し、微生物用培地に使用する約10kgの粉末状の培地用乾燥物を得た。

【0021】

【比較例1】大麦製焼酎製造の蒸留工程で得られた前記大麦製焼酎蒸留残液1キロリットルを信和エンジニアリング(株)製のスクリーブレス方式の固液分離機で固液分離し、約0.85キロリットルの液体分を得た。該液体分を(株)西村鉄鋼所製ディスク型乾燥機を用いて乾燥し、約70kgの乾燥物を得た。得られた該乾燥物

を(株)西村鉄鋼所製の粉碎機により粉碎し、微生物用培地に使用する粉末状の培地用乾燥物を得た。

【0022】

【評価】前記実施例1および前記比較例1で得られた培地用乾燥物について、以下の実験を介して、それらの有用性を評価した。

【0023】

【実験1】微生物用培地に求められる基本的な条件として、水に溶解した場合の水不溶性成分量が少ないことが挙げられる。このような水不溶性成分が培養液中に多量に存在すると、培養中の菌体濃度の測定や培養終了後の菌体の回収が困難になり、培地としての価値を著しく低めてしまう。そこで前記実施例1および前記比較例1で得られた培地用乾燥物について、以下の実験1において、それらを水に溶解した場合の水不溶性成分量の比較をおこなった。

【0024】実施例1で得られた培地用乾燥物10gを20℃の水1リットルに溶解し攪拌後、得られた溶解液を8000rpmで15分間遠心分離し、湿重量で0.05gの水不溶性成分を得た。これと同様に、比較例1

で得られた培地用乾燥物10gを20℃の水1リットルに溶解し攪拌後、得られた溶解液を8000rpmで15分間遠心分離し、湿重量で3.2gの水不溶性成分を得た。

【0025】上記実験1において得られた水不溶性成分量の結果を表2に示す。表2に示した結果から明らかなように、比較例1で得られた微生物用培地の場合には、水不溶性成分の割合が使用した培地用乾燥物の32%に達した。一方、本発明の実施例1で得られた前記微生物用培地の場合には、水不溶性成分の割合は使用した培地用乾燥物のわずか0.5%以下であった。以上のことから、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物に含まれる水不溶性成分は、比較例1で得られた培地用乾燥物に含まれる水不溶性成分の1/60以下の量であった。すなわち、本発明で得られた培地用乾燥物は、培養中の菌体濃度の測定や培養終了後の菌体の回収の際に何ら問題を生じない、微生物培養に極めて適した性質を有していることが明らかとなった。

【0026】

【実験2】微生物用培地に求められる基本的な条件として、水に溶解した場合の着色成分量が少ないことが挙げられる。着色成分は培地成分として不要であり、これらの着色成分が培地中に多量に存在すると、培養中の菌体濃度の測定が困難になるだけでなく、培養終了後に得られる菌体が着色されてしまう。このため、培地としての価値を著しく低めてしまう。そこで以下の実験2において、前記実施例1および前記比較例1で得られた培地用乾燥物の着色成分についての評価を行った。

【0027】上記実験1で得られたそれぞれの溶解液を遠心分離して上清を得、得られた上清について、該上清

の色を目視観察し、さらに吸光光度計を用いて該上清の430nm、および480nmにおける吸光度を測定した。実験2において調べたそれぞれの溶解液の結果を表3に示す。表3に示した結果から明かなように、それぞれの溶解液の上清についてその色を目視観察した結果、本発明の実施例1で得られた溶解液の上清は無色を呈し、着色は認められなかった。一方、比較例1で得られた溶解液の上清は濃褐色を呈し、着色成分が多量に含まれていることが明らかであった。また、表3に示した結果から明かなように、それぞれの溶解液の上清についてその430nmおよび480nmの吸光度を測定した結果、本発明の実施例1で得られた溶解液の上清は、比較例1で得られた溶解液の上清と比較して、極めて低い吸光度を示した。

【0028】さらに以下の実験3および実験4において、前記実施例1において得た清澄液と、該清澄液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して得た非吸着性画分のそれぞれの凍結乾燥物について、それらの着色成分についての評価を行った。

【実験3】上記実施例1において得た清澄液と該清澄液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して得た非吸着性画分のそれぞれ1リットルを凍結乾燥し、得られたそれぞれの凍結乾燥物の重量を測定した。その結果、該清澄液1リットルからは28.1gの凍結乾燥物が得られたのに対して、非吸着性画分1リットルからは、25.7gの凍結乾燥物が得られた。このことから清澄液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得ることにより、該清澄液1リットル当たり2.4gの不要な着色成分を取り除くことができることがわかった。

【0029】

【実験4】さらに別に以下の実験4を行った。すなわち、上記実施例1において得た培地用乾燥物と、上記実施例1における該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付さずにそのまま噴霧乾燥して得た培地用乾燥物を用いて、酵母の培養試験を行い、得られる培養酵母菌体の色の評価を行った。

【本発明の培地による培養試験】上記実施例1において得た培地用乾燥物30g、ブドウ糖32.5g、炭酸アンモニウム8.5g、リン酸アンモニウム2g、硫酸マグネシウム0.3g、及び50%乳酸27.5gを水1リットルに溶解し、pH4.5に調整後、市販の焼酎酵母を接種し、30℃で40時間好気培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離した。その結果、該酵母菌体本来の白色を呈する湿重量36.2gの酵母菌体を得られた。

【対照の培地による培養試験】上記実施例1における該濃縮液を合成吸着剤を用いる吸着処理に付さずにそのまま噴霧乾燥して得た培地用乾燥物30g、ブドウ糖32.5g、炭酸アンモニウム8.5g、リン酸アンモニウム2g、硫酸マグネシウム0.3g、及び50%乳酸

27.5gを水1リットルに溶解し、pH4.5に調整後、市販の焼酎酵母を接種し、30℃で40時間好気培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離した。その結果、該酵母菌体本来の白色とは異なる褐色を呈した湿重量32.5gの酵母菌体を得られた。以上のことから、本発明による微生物用培地は、着色成分の含有量が極めて低いため、培養中の菌体濃度の測定の際に何ら問題を生じず、得られる培養菌体においても着色がほとんど認められない微生物培養に極めて適した性質を有していることが明らかとなった。

#### 【0030】

【実験5】前記実施例1で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている廃糖蜜を用いて、酵母の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

#### 【0031】

【本発明の培地による培養試験】実施例1で得られた培地用乾燥物30g、ブドウ糖32.5g、炭酸アンモニウム8.5g、リン酸アンモニウム2g、硫酸マグネシウム0.3g、及び50%乳酸27.5gを水1リットルに溶解し、pH4.5に調整後、市販の焼酎酵母を接種し、30℃で40時間好気培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離した。その結果、湿重量で37.5gの菌体を得られた。

【対照の培地による培養試験】廃糖蜜50g、ブドウ糖32.5g、炭酸アンモニウム8.5g、リン酸アンモニウム2g、硫酸マグネシウム0.3g、及び50%乳酸27.5gを水1リットルに溶解し、pH4.5に調整後、市販の焼酎酵母を接種し、30℃で40時間好気培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、湿重量で28.0gの菌体を得られた。

【0032】実験5において調べた酵母培養試験の結果を表4に示す。表4に示した結果から明らかなように、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を用いた場合の酵母菌体の湿重量は、対照の廃糖蜜を用いた場合の1.34倍に達した。さらに、この結果を培地添加量あたりで比較すると、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を用いた場合の酵母菌体の湿重量は、対照の廃糖蜜を用いた場合の2.23倍に達することが判った。さらに、培養中の酵母菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を用いた場合には、培養開始後30時間目において、すでに対照の廃糖蜜を用いた場合の培養終了時（40時間目）とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことから、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所望の酵母菌体を得られることが明らかとなった。

#### 【0033】

【実験6】前記実施例1で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている培地用酵母エキスを

用いて、乳酸菌の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

#### 【0034】

【本発明の培地による培養試験】実施例1で得られた培地用乾燥物5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>T</sup>を接種し、30℃で40時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離した。その結果、湿重量で41.5gの菌体を得られた。

【対照の培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>T</sup>を接種し、30度で40時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、湿重量で29.4gの菌体を得られた。

【0035】実験6において調べた乳酸菌培養試験の結果を表5に示す。表5に示した結果から明らかなように、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を用いた場合の乳酸菌菌体の湿重量は、培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の1.41倍に達した。また、培養中の乳酸菌菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を用いた場合には、培養開始後28時間目において、すでに培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の培養終了時（40時間目）とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことから、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所望の乳酸菌菌体を得られることが明らかとなった。

#### 【0036】

【実験7】前記実施例1で得られた培地用乾燥物を、従来の乳酸菌培養の際に用いる乳酸菌培養用の対照培地に1%添加して、乳酸菌の培養試験を行い、本発明により得られた培地用乾燥物の乳酸菌増殖促進因子としての評価を行った。

#### 【0037】

【対照培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整する手法で3個の培地を作製した。ラクトバチルス プランタラムIFO3070、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>T</sup>、及びラクトバチルス フェーメンタムIFO3071のそれぞれを個別に前記培地の1つに接種し、30℃で40時間培養した。これにより3個の培養液を得た。得られた3個の培養液のそれぞれを10000rpmで15分間遠心分離した。このようにして前記3種類の乳酸菌のそれぞれについて培養菌体を得た。

【対照培地に本発明の培地を1%添加した培養試験】実施例1で得られた培地用乾燥物10g、培地用酵母エキ

ス5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整する手法で3個の培地を作製した。ラクトバチルス プランタラムIFO3070、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>†</sup>、及びラクトバチルス フェーメンタムIFO3071のそれぞれを個別に前記培地の1つに接種し、30℃で40時間培養した。これにより3個の培養液を得た。得られた3個の培養液のそれぞれを10000rpmで15分間遠心分離した。このようにして前記3種類の乳酸菌のそれぞれについて培養菌

体を得た。  
【0038】その結果、前記対照培地に本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を1%添加することにより、上述の乳酸菌それぞれの増殖が著しく促進されることが判った。具体的には、前記対照培地に本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物を1%添加することにより、乳酸菌の菌体湿重量が、ラクトバチルス プランタラムIFO3070では対照培地の3.13倍、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>†</sup>では対照培地の2.58倍、ラクトバチルス フェーメンタムIFO3071では対照培地の2.67倍に達した。このことから本発明により得られる微生物用培地は優れた乳酸菌の増殖促進効果も有することが判った。

【0039】

【実験8】前記実施例1で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている培地用酵母エキスをを用いて、ビフィズス菌の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

【0040】

【本発明の培地による培養試験】実施例1で得られた培地用乾燥物10g、ブドウ糖10g、カゼインペプトン10g、肉エキス5g、リン酸水素2カリウム3g、L-システイン塩酸塩0.5g、アスコルビン酸ナトリウム10g、及び1mlの界面活性剤Tween80(商標名)を水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ビフィドバクテリウム ビフィダムJCM1254を接種し、37℃で48時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、ビフィズス菌菌体を得た。

【対照の培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、カゼインペプトン10g、肉エキス5g、リン酸水素2カリウム3g、L-システイン塩酸塩0.5g、アスコルビン酸ナトリウム10g、及び1mlの界面活性剤Tween80(商標名)を水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ビフィドバクテリウム ビフィダムJCM1254を接種し、37℃で48時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、ビフィズス菌菌体を得た。

【0041】その結果、それぞれの培養試験において得られたビフィズス菌菌体の湿重量を比較したところ、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物をを用いた場合の

ビフィズス菌菌体の湿重量は、培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の1.63倍に達した。また、培養中のビフィズス菌菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例1で得られた培地用乾燥物をを用いた場合には、培養開始後35時間目において、すでに培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の培養終了時(48時間目)とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことから、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所望のビフィズス菌菌体が得られることが明らかとなった。

【0042】

【実施例2】大麦製焼酎製造の蒸留工程で得られた前記大麦製焼酎蒸留残液1キロリットルを信和エンジニアリング(株)製のスクリュースプレス方式の固液分離機で固液を分離し、得られた液体分をさらに巴工業(株)社製のデカンタ型遠心分離器を用いて固液を分離し、得られた液体分をさらに日本シューマッハー(株)社製のセラミックろ過装置を用いてさらにSS分を分離し、約0.85キロリットルの清澄液を得、当該清澄液を水酸化ナトリウムで中和し、約0.9キロリットルの中和液を得た。次に、当該中和液を(株)大河原製作所製の真空蒸発装置を用いて約3倍まで濃縮して濃縮液を得、得られた当該濃縮液を三菱化学社製の合成吸着剤セパビーズSP850を充填したカラムに接触させ、当該充填カラムから溶出してきた当該合成吸着剤に対して非吸着性を示す非吸着性画分を得、得られた非吸着性画分を(株)大河原化工機製スプレー型乾燥機を用いて、入口温度150℃、出口温度80℃、熱風量0.45m<sup>3</sup>/min、および噴霧空気量1.0kgf/cm<sup>2</sup>の条件で噴霧乾燥し、微生物用培地に使用する約8kgの培地用乾燥物を得た。

【0043】

【実験9】前記実施例2で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている培地用酵母エキスをを用いて、乳酸菌の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

【0044】

【本発明の培地による培養試験】実施例2で得られた培地用乾燥物5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>†</sup>を接種し、30℃で40時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離した。その結果、湿重量で45.3gの菌体を得られた。

【対照の培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>†</sup>を接種し、30度で40時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、湿重量で29.7g

の菌体を得られた。

【0045】実験9において調べた乳酸菌培養試験の結果を表6に示す。表6に示した結果から明らかなように、本発明の実施例2で得られた培地用乾燥物を用いた場合の乳酸菌菌体の湿重量は、培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の1.53倍に達した。また、培養中の乳酸菌菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例2で得られた培地用乾燥物を用いた場合には、培養開始後28時間目において、すでに培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の培養終了時(40時間目)とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことから、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所望の乳酸菌菌体を得られることが明らかとなった。

【0046】

【実験10】前記実施例2で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている培地用酵母エキスをを用いて、ビフィズス菌の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

【0047】

【本発明の培地による培養試験】実施例2で得られた培地用乾燥物10g、ブドウ糖10g、カゼインペプトン10g、肉エキス5g、リン酸水素2カリウム3g、L-システイン塩酸塩0.5g、アスコルビン酸ナトリウム10g、及び1mlの界面活性剤Tween80(商標名)を水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ビフィドバクテリウム ビフィダムJCM1254を接種し、37℃で48時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、ビフィズス菌菌体を得た。

【対照の培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、カゼインペプトン10g、肉エキス5g、リン酸水素2カリウム3g、L-システイン塩酸塩0.5g、アスコルビン酸ナトリウム10g、及び1mlの界面活性剤Tween80(商標名)を水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ビフィドバクテリウム ビフィダムJCM1254を接種し、37℃で48時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、ビフィズス菌菌体を得た。

【0048】その結果、それぞれの培養試験において得られたビフィズス菌菌体の湿重量を比較したところ、本発明の実施例2で得られた培地用乾燥物を用いた場合のビフィズス菌菌体の湿重量は、培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の1.81倍に達した。また、培養中のビフィズス菌菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例2で得られた培地用乾燥物を用いた場合には、培養開始後35時間目において、すでに培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の培養終了時(48時間目)とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことから、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所

望のビフィズス菌菌体を得られることが明らかとなった。

【0049】

【実施例3】大麦製焼酎製造の蒸留工程で得られた前記大麦製焼酎蒸留残液1キロリットルを信和エンジニアリング(株)製のスクリーブプレス方式の固液分離機で固液を分離し、得られた液体分をさらに巴工業(株)社製のデカンタ型遠心分離器を用いて固液を分離し、約0.85キロリットルの液体分を得た。次に、当該液体分を(株)大河原製作所製の真空蒸発装置を用いて約1/3に濃縮して濃縮液を得、得られた当該濃縮液を三菱化学社製の合成吸着剤セバピーズSP850を充填したカラムに接触させ、当該充填カラムから溶出してきた当該合成吸着剤に対して非吸着性を示す非吸着性画分を得、得られた非吸着性画分に可溶分の1.5倍量の(株)日濃化学製食品添加用デキストリン・アミコール6-Lを添加後、(株)大河原化工機製スプレー型乾燥機を用いて、入口温度150℃、出口温度80℃、熱風量0.45m<sup>3</sup>/min、および噴霧空気量1.0kgf/cm<sup>2</sup>の条件で噴霧乾燥し、微生物用培地に使用する約12kgの乾燥物を得た。

【0050】

【実験11】前記実施例3で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている培地用酵母エキスをを用いて、乳酸菌の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

【0051】

【本発明の培地による培養試験】実施例3で得られた培地用乾燥物5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>T</sup>を接種し、30℃で40時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離した。その結果、湿重量で43.1gの菌体を得られた。

【対照の培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、ポリペプトン5g、及び塩化ナトリウム5gを水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ラクトバチルス アシドフィラスIFO13951<sup>T</sup>を接種し、30度で40時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、湿重量で29.2gの菌体を得られた。

【0052】実験11において調べた乳酸菌培養試験の結果を表7に示す。表7に示した結果から明らかなように、本発明の実施例3で得られた培地用乾燥物を用いた場合の乳酸菌菌体の湿重量は、培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の1.48倍に達した。また、培養中の乳酸菌菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例3で得られた培地用乾燥物を用いた場合には、培養開始後28時間目において、すでに培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の培養終了時(40時間目)とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことか



ら、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所望の乳酸菌菌体を得られることが明らかとなった。

#### 【0053】

【実験12】前記実施例3で得られた培地用乾燥物、および従来から一般的に使用されている培地用酵母エキスをを用いて、ビフィズス菌の培養試験を行い、本発明により得られた微生物用培地の評価を行った。

#### 【0054】

【本発明の培地による培養試験】実施例3で得られた培地用乾燥物10g、ブドウ糖10g、カゼインペプトン10g、肉エキス5g、リン酸水素2カリウム3g、L-システイン塩酸塩0.5g、アスコルビン酸ナトリウム10g、及び1mlの界面活性剤Tween80(商標名)を水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ビフィドバクテリウム ビフィダムJCM1254を接種し、37℃で48時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、ビフィズス菌菌体を得た。

【対照の培地による培養試験】培地用酵母エキス5g、ブドウ糖10g、カゼインペプトン10g、肉エキス5g、リン酸水素2カリウム3g、L-システイン塩酸塩0.5g、アスコルビン酸ナトリウム10g、及び1ml\*

\*の界面活性剤Tween80(商標名)を水1リットルに溶解し、pH7に調整後、ビフィドバクテリウム ビフィダムJCM1254を接種し、37℃で48時間培養し、得られた培養液を10000rpmで15分間遠心分離し、ビフィズス菌菌体を得た。

【0055】その結果、それぞれの培養試験において得られたビフィズス菌菌体の湿重量を比較したところ、本発明の実施例3で得られた培地用乾燥物を用いた場合のビフィズス菌菌体の湿重量は、培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の1.73倍に達した。また、培養中のビフィズス菌菌体の湿重量を経時的に調べたところ、本発明の実施例3で得られた培地用乾燥物を用いた場合には、培養開始後35時間目において、すでに培地用酵母エキスをを用いた対照の場合の培養終了時(48時間目)とほぼ同じ菌体湿重量に達していることが判った。このことから、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地を用いることにより、従来よりも短い培養日数で所望のビフィズス菌菌体を得られることが明らかとなった。

#### 【0056】

##### 【表1】

	1次	2次	計
大麦麹	3t		3t
蒸麦		10t	10t
汲水	3.6kL	11.4kL	15.0KL

#### 【0057】

##### ※ ※【表2】

不溶性成分測定試験	
	不溶性成分・湿重量(g)/10g
比較例1	3.2
実施例1	0.05以下

#### 【0058】

##### ★40★【表3】

着色度測定試験			
	色	吸光度(430nm)	吸光度(480nm)
比較例1	濃褐色	3.994	3.000
実施例1	無色	0.146	0.110

#### 【0059】

##### ☆☆【表4】

酵母培養試験	
	焼酎酵母・湿重量 (g)
比較例1	28.0
実施例1	37.5
増加率 (%)	134

【0060】

\* \* 【表5】

乳酸菌培養試験	
	ラクトバチルス アシドフィラス IF013951 <sup>T</sup> ・湿重量 (g)
比較例1	29.4
実施例1	41.5
増加率 (%)	141

【0061】

\* \* 【表6】

乳酸菌培養試験	
	ラクトバチルス アシドフィラス IF013951 <sup>T</sup> ・湿重量 (g)
比較例1	29.7
実施例2	45.3
増加率 (%)	153

【0062】

★ ★ 【表7】

乳酸菌培養試験	
	ラクトバチルス アシドフィラス IF013951 <sup>T</sup> ・湿重量 (g)
比較例1	29.2
実施例3	43.1
増加率 (%)	148

【0063】

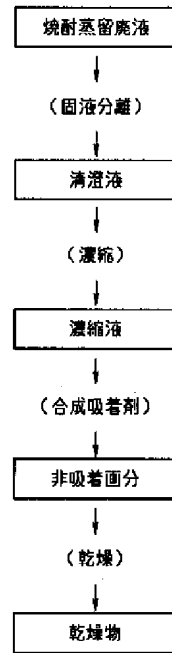
【発明の効果】以上詳述したように、本発明の焼酎蒸留残液から得られる微生物用培地の製造方法によれば、以下の効果を奏することができる。すなわち、大麦を原料とする焼酎製造において副成する焼酎蒸留残液を固液分離して液体分を得、該液体分をろ過して清澄液を得、該清澄液を濃縮して濃縮液を得、該濃縮液を合成吸着剤を☆

☆用いる吸着処理に付して非吸着性画分を得、該非吸着性画分を乾燥することにより、これを微生物用培地として用いた場合、水不溶性成分および着色成分が極めて少なくなり、得られる培養菌体の量が著しく増加する。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の微生物用培地の製造工程を示す製造工程図である。

【 図 1 】



---

フロントページの続き

(72)発明者 後藤 理佐  
大分県宇佐市大字山本2231-1 三和酒類  
株式会社内  
(72)発明者 梅本 泰史  
大分県宇佐市大字山本2231-1 三和酒類  
株式会社内

(72)発明者 下田 雅彦  
大分県宇佐市大字山本2231-1 三和酒類  
株式会社内  
F ターム(参考) 4B065 AA01X BC01 BD15 BD50  
CA46 CA55